	Proteine	S II
	Stationenlernen: Enzymversuche	

Vorwort und Organisation:

Im 4-stündigen Profil- und Neigungsfach Chemie lernen die Schüler/innen die Proteine als Struktur- und Funktionsmoleküle des Lebens kennen. Beim Stationenlernen haben die Schüler/innen die Möglichkeit, die Enzymversuche (Stationen) auszuwählen, die sie gerne bearbeiten möchten. Gleichzeitig kommt man der Lehrplanforderung nach, dass das selbstständige Arbeiten der Schüler/innen nicht nur im Praktikum, sondern auch in anderen Unterrichtsformen weiterentwickelt wird (vgl. Lehrplanheft 3/2001, „Bildungsplan Kursstufe“, S. 214).

Die vorliegenden Lernstationen bieten lediglich eine Auswahl von möglichen Enzymversuchen. Für die Unterrichtspraxis können davon einzelne Stationen ausgewählt oder andere Stationen hinzugefügt werden.

Möglicher Unterrichtsgang:

- Bau und Funktion von Proteinen / Enzymen
- Stationenlernen „Enzymversuche“, etwa 2 Stunden (siehe Anmerkung 1)
- Auswertung der Versuche der Lernstationen (siehe Anmerkung 2 und 3)
- Abrundung des Themas

Anmerkung 1:

Der Zeitbedarf für die einzelnen Stationen ist verschieden. Bei großer Schülerzahl ist es deshalb ratsam, einzelne Stationen doppelt anzubieten.

Die Schüler/innen arbeiten in Zweier- oder Dreiergruppen.

Innerhalb einer Doppelstunde können nur 2-5 Stationen bearbeitet werden. Es muss nicht jede/r Schüler/in jeden Versuch selbst durchgeführt haben! Die Inhalte der nicht selbst bearbeiteten Stationen müssen in der Auswertungsphase und in der häuslichen Nacharbeit erfasst werden.

- Jede/r Schüler/in erhält 1 **Arbeitsblatt** mit einer kurzen Übersicht über die einzelnen Stationen.
- Jede/r Schüler/in erhält zusätzlich an jeder Station, die gerade bearbeitet wird, 1 **Stationsblatt**.

Im Verlauf der Doppelstunde entscheidet jede Gruppe, von welcher Versuchsstation bzw. von welchen Versuchsstationen die Ergebnisse und Erkenntnisse im Plenum vorgestellt werden (→ Eintrag in eine **Liste**: Namen der Gruppenmitglieder, Station Nr. ...).

Anmerkung 2:

Von jeder Versuchsstation werden die Ergebnisse aller Aufgaben von jeweils einer Gruppe in einem Kurzvortrag vorgestellt und im Plenum diskutiert. Ergänzende Informationen vervollständigen den Sachverhalt.

Alle Schüler/innen sichern sich die Ergebnisse von den Versuchen, die sie nicht selbst durchgeführt haben.

Anmerkung 3:

In der **Materialliste** sind die für die Lernstationen erforderlichen Geräte und Chemikalien zusammengestellt.

Unter **Hinweise und Lösungen** finden Sie in sehr knapper Form Hintergrundinformationen und Lösungen zu den Aufgaben der einzelnen Stationen.

Materialliste:

Station 1: Anorganischer Katalysator und Biokatalysator „Katalase“

5 Reagenzgläser (RG), RG-Ständer, Knoblauchpresse, kleines Becherglas, Spatel, Messer, Glimmspan, Brenner, Schutzbrille.

Wasserstoffperoxid-Lösung (w = 10 %), Braunstein MnO₂, Kartoffel, Trockenhefe.

Station 2: Die pH-Abhängigkeit der Enzymwirkung

3 Reagenzgläser (RG), RG-Ständer, Spatel. Trockenhefe, Wasserstoffperoxid-Lösung (w = 10 %), verd. Salzsäure, verd. Natronlauge, Universalindikatorpapier.

Station 3: Die Temperaturabhängigkeit der Enzymwirkung

4 Reagenzgläser (RG), RG-Ständer, Spatel, Schutzbrille, 3 x 400-mL-Bechergläser (für Wasserbäder 0 °C, 20 °C, 37 °C), 3 Thermometer, Brenner, RG-Klammer.

Trockenhefe, Wasserstoffperoxid-Lösung (w = 10 %), Eis, Universalindikatorpapier.

Station 4: Substratspezifität der Urease

3 Reagenzgläser (RG), RG-Ständer, Armbanduhr oder Stoppuhr.

Frische Lösungen von Harnstoff (w = 2 %) und N-Methylharnstoff (w = 2%), Phenolphthalein-Lösung, Urease-Suspension (w = 0,1 %) in Tropfflaschen.

Station 5: Substrathemmung der Urease

3 Reagenzgläser (RG), RG-Ständer, Armbanduhr oder Stoppuhr.

Frische Harnstofflösung (w = 2 %), gesättigte Harnstofflösung (w = 50 %), Phenolphthalein-Lösung, Urease-Suspension (w = 0,1 %) in Tropfflaschen.

Station 6: Kompetitive Hemmung der Urease

5 Reagenzgläser (RG), RG-Ständer, weiße Unterlage (z.B. Heft).

Frische Lösungen von Harnstoff (w = 1 %) und N-Methylharnstoff (w = 5 %), Phenolphthalein-Lösung, Urease-Suspension (w = 0,1 %) und dest. Wasser in Tropfflaschen.

Station 7: Einfluss von Salzen auf Urease

10 Reagenzgläser (RG), RG-Ständer, Lösungen in Tropfflaschen.

Harnstoff-Lösung (w = 2 %), Schwermetallsalz-Lösungen (c = 0,1 mol/L) von z.B. Kupfersulfat, Nickel(II)-chlorid (Xi), Zink(II)-sulfat, Kochsalzlösung (c = 0,1 mol/L), Phenolphthalein-Lösung, Urease-Suspension (w = 0,1 %).

Station 8: Gegenmaßnahmen bei Schwermetallvergiftungen

8 Reagenzgläser (RG), RG-Ständer, Lösungen in Tropfflaschen.

Harnstofflösung (w = 5 %), Kupfer(II)-sulfatlösung (c = 0,001 mol/L), Phenolphthalein-Lösung, EDTA-Lösung (c = 0,1 mol/L, Dinatriumsalz), Cystein-Lösung (c = 0,1 mol/L), Urease-Suspension (w = 0,1 %), Aqua dest.

Zur Herstellung von jeweils 100 mL der genannten Lösungen mit oben angegebener Konzentration benötigt man: 0,025 g CuSO₄ · 5 H₂O [Xn, N]; 3,72 g EDTA-Dinatriumsalz; 1,21 g Cystein (Cystein und EDTA müssen im heißen Wasserbad gelöst werden).

Station 9a: Enzymatischer Abbau von Harnstoff - Messwerterfassung mit dem Computer

20-mL-Schnappdeckelglas, Rührfisch, Magnetstab, Stativmaterial, Magnetrührer, Leitfähigkeitsmesszelle, Messwandler (z.B. ALL-CHEM-MISST), Computer mit geeigneter Software (z.B. AK Analytik 32), Drucker, 2-mL- und 10-mL-Pipette, Pipettierhilfe, 100-mL-Becherglas (Spülen der Messzelle).

Bei Messung der Temperaturabhängigkeit der Enzymaktivität (siehe Hinweis): Kristallisierschale für Wasserbad, Kontaktthermometer.

Harnstoff-Lösung (w = 2 %), Urease-Suspension (w = 0,1 %), dest. Wasser.

Versuch 9b: Enzymatischer Abbau von Harnstoff - pH-Messung

20-mL-Schnappdeckelglas, Rührfisch, Magnetstab, Stativmaterial, Magnetrührer, Stativmaterial, pH-Meter, 2-mL- und 10-mL-Pipette, Pipettierhilfe, Stoppuhr oder Armbanduhr.

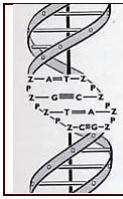
Harnstoff-Lösung (w = 2 %), Urease-Suspension (w = 0,1 %), dest. Wasser, Puffer zum Eichen des pH-Meters.

Station 10: Was haben Enzyme mit Käse zu tun?

3 Reagenzgläser (RG), RG-Ständer, 37 °C-Wasserbad, Thermometer, 5-mL-Pipette, Pipettierhilfe, 2 Tropf-pipetten, Mörser + Pistill, Brenner, RG-Klammer, Armbanduhr oder Stoppuhr.

Frische pasteurisierte Milch, Hobbythek-Labtableten (erhältlich in Apotheken oder Fa. Rink Wangen:

www.rink-gmbh.de [→ Art.Nr. 1023 DM, 25 Stück, 7,85 €] oder beim Hersteller: Grünau Illertissen GmbH, Robert-Hansen-Str. 1, 89257 Illertissen).



Stationenlernen Enzymversuche

S II

Arbeitsblatt: Übersicht über die Stationen 1-10

Station 1: Anorganischer Katalysator und Biokatalysator „Katalase“

Füllen Sie in jedes der 5 RG etwa 2 mL (eine Daumenbreite) Wasserstoffperoxid-Lösung ein.

- RG 1: Dient zum Vergleich.
- RG 2: Spatelspitze MnO_2 zufügen und umschütteln.
- RG 3: Kartoffelstückchen zufügen und umschütteln.
- RG 4: Frisch gepressten Kartoffelbrei (Knoblauchpresse) zufügen und umschütteln.
- RG 5: Spatelspitze Trockenhefe zufügen und umschütteln.
- Weisen Sie das entstehende Gas nach! (Wie?)

Station 2: Die pH-Abhängigkeit der Enzymwirkung

Bereiten Sie 3 RG mit je einer Spatelspitze Trockenhefe vor.

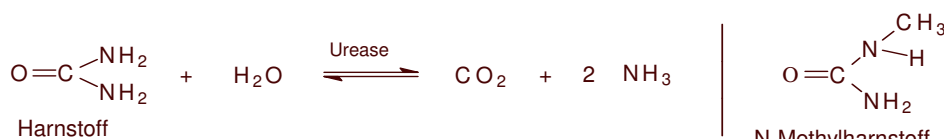
- RG 1: + ca. 2 mL (eine Daumenbreite) verdünnte Salzsäure, umschütteln und etwa 5 min lang einwirken lassen
- RG 2: + ca. 2 mL verdünnte Natronlauge, umschütteln und etwa 5 min lang einwirken lassen
- RG 3: + ca. 2 mL Leitungswasser, umschütteln und etwa 5 min lang einwirken lassen.
- Prüfen Sie zwischenzeitlich den pH-Wert von Salzsäure, Natronlauge und Leitungswasser.
- Fügen Sie dann zu allen 3 RG je 1 mL Wasserstoffperoxid-Lösung zu.

Station 3: Die Temperaturabhängigkeit der Enzymwirkung

Bereiten Sie 4 RG vor:

- RG 1: + Spatelspitze Trockenhefe + ca. 1 mL (halbe Daumenbreite) Leitungswasser. Kochen Sie den RG-Inhalt kurz auf und lassen Sie es danach abkühlen.
- RG 2: + ca. 1 mL Leitungswasser + ca. 2 mL Wasserstoffperoxid-Lösung, 5 min lang in Eiswasser stellen.
- RG 3: + ca. 1 mL Leitungswasser + ca. 2 mL Wasserstoffperoxid-Lösung, 5 min lang in Wasserbad mit der Temperatur des Leitungswassers stellen.
- RG 4: + ca. 1 mL Leitungswasser + ca. 2 mL Wasserstoffperoxid-Lösung, 5 min lang in Wasserbad mit $37\text{ }^\circ\text{C}$ stellen.
- Fügen Sie zu RG 1 ca. 2 mL Wasserstoffperoxid-Lösung und zu den RG 2-4 je 1 Spatelspitze Trockenhefe hinzu und vergleichen Sie nach kurzem Schütteln die Intensität der Gasentwicklung.

Station 4: Substratspezifität der Urease



Bereiten Sie 3 RG vor:

- RG 1: Ca. 2 mL (eine Daumenbreite) Harnstoff-Lösung + 2 Tr. Phenolphthalein
- RG 2: Ca. 2 mL Harnstoff-Lösung + 2 Tr. Phenolphthalein
- RG 3: Ca. 2 mL N-Methylharnstoff-Lösung + 2 Tr. Phenolphthalein
- Geben Sie zu den Versuchsansätzen in RG 2 und RG 3 je 1 mL Urease-Suspension und schütteln Sie kurz um. Stoppen Sie die Zeit bis zur Pinkfärbung des Inhalts.

Station 5: Substrathemmung der Urease

Bereiten Sie 3 RG vor:

- RG 1: Ca. 2 mL (eine Daumenbreite) Harnstoff-Lösung ($w = 2\%$) + 2 Tr. Phenolphthalein
- RG 2: Ca. 2 mL Harnstoff-Lösung ($w = 2\%$) + 2 Tr. Phenolphthalein
- RG 3: Ca. 2 mL Harnstoff-Lösung ($w = 50\%$) + 2 Tr. Phenolphthalein

Geben Sie zu den Versuchsansätzen in RG 2 und RG 3 je 1 mL Urease-Suspension und schütteln Sie kurz um. Stoppen Sie die Zeit bis zur Pinkfärbung des Inhalts.

Station 6: Kompetitive Hemmung der Urease

Bereiten Sie 5 RG vor:

- RG 1: Ca. 2 mL (eine Daumenbreite) Harnstoff-Lösung + 3 Tr. Phenolphthalein
- RG 2a: Ca. 2 mL Harnstoff-Lösung + 2 mL dest. Wasser + 3 Tr. Phenolphthalein
- RG 3a: Ca. 2 mL Harnstoff-Lösung + 2 mL N-Methylharnstoff-Lösung + 3 Tr. Phenolphthalein
- RG 2b und RG 3b: Je ca. 1 mL Urease-Suspension.
- Gießen Sie die Urease-Suspensionen (RG 2b und RG 3b) **zeitgleich** zu den Versuchsansätzen von RG 2a und RG 3a und schütteln Sie kurz um. Beobachten Sie beide Versuchsansätze über einer weißen Unterlage.

Station 7: Einfluss von Salzen auf Urease

Bereiten Sie 5 RG vor:

- RG 1: Ca. 1 mL (halbe Daumenbreite) Urease-Suspension
- RG 2: Ca. 1 mL Urease-Suspension + 3 Tr. Kupfersalzlösung
- RG 3: Ca. 1 mL Urease-Suspension + 3 Tr. Nickelsalzlösung
- RG 4: Ca. 1 mL Urease-Suspension + 3 Tr. Zinksalzlösung
- RG 5: Ca. 1 mL Urease-Suspension + 3 Tr. Kochsalzlösung

Lassen Sie die Salzlösungen 2-3 min lang einwirken!

Während dieser Einwirkzeit bereiten Sie 5 weitere RG mit je 2 mL Harnstofflösung (eine Daumenbreite) und 2 Tr. Phenolphthalein vor.

Danach gießen Sie die Harnstofflösungen zu den Urease-Suspensionen und schütteln kurz um.

Station 8: Gegenmaßnahmen bei Schwermetallvergiftungen

Bereiten Sie 4 RG vor:

- RG 1a: Ca. 1 mL (halbe Daumenbreite) Urease-Suspension .
- RG 2a: Ca. 1 mL Urease-Suspension + 3 Tr. Kupfer(II)-sulfatlösung.
- RG 3a: Ca. 1 mL Urease-Suspension + 3 Tr. Kupfer(II)-sulfatlösung.
- RG 4a: Ca. 1 mL Urease-Suspension + 3 Tr. Kupfer(II)-sulfatlösung.

Lassen Sie die Kupfer(II)-sulfatlösungen 2-3 min lang einwirken!

Während dieser Einwirkzeit werden 4 weitere RG vorbereitet:

- RG 1b: Ca. 2 mL (eine Daumenbreite) Harnstofflösung + 3 Tr. Phenolphthalein + 1 mL H₂O.
- RG 2b: wie RG 1'.
- RG 3b: Ca. 2 mL Harnstofflösung + 3 Tr. Phenolphthalein + 1 mL EDTA-Lösung.
- RG 4b: Ca. 2 mL Harnstofflösung + 3 Tr. Phenolphthalein + 1 mL Cysteinlösung.

Dann gießen Sie die Harnstofflösungen zu den Urease-Suspensionen (RG 1b→RG 1a, RG 2b→RG 2a, usw.).

Notieren Sie die Beobachtungen nach 5, 10 und 15 Minuten. **(Nehmen Sie den RG-Ständer der Station 8 für die weitere Beobachtung zur nächsten Station mit).**

Station 9a: Enzymatischer Abbau von Harnstoff – Messwerterfassung mit dem Computer

- Pipettieren Sie 10 mL Harnstofflösung in das Schnappdeckelglas mit Rührfisch.
- Schalten Sie dann den Magnetrührer ein und prüfen die Leitfähigkeit mit dem Leitfähigkeitsprüfer. Der Computer zeigt die Leitfähigkeit digital in mS (Millisiemens) an.
- Wenn die Leitfähigkeit konstant bleibt, geben Sie 2 mL Urease-Suspension zu und klicken mit der Maustaste das grüne Feld „Start“ an.

Versuch 9b: Enzymatischer Abbau von Harnstoff – pH-Meter

Der Verlauf des Harnstoffabbaus wird durch die pH-Messung der Lösung verfolgt.

Station 10: Was haben Enzyme mit Käse zu tun?

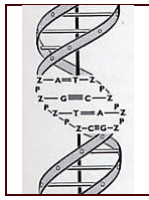
Beschriften Sie 3 RG mit „Lab“, „Lab erhitzt“ und „K“ für Kontrolle.

Stellen Sie diese 3 RG mit 2 mL (eine Daumenbreite) frischer, pasteurisierter Milch ins Wasserbad mit 37 °C.

RG 4: Eine halbe, im Mörser zerriebene Hobbythek-Labtablette in 2 mL (eine Daumenbreite) Leitungswasser auflösen und den Inhalt von RG 4 auf RG 4 und RG 5 verteilen.

RG 5: Die Enzymlösung etwa 1 min lang aufkochen.

Geben Sie zum RG „Lab“ 3 Tr. der nicht erhitzten „Lab-Lösung“ (RG 4) und ins RG „Lab erhitzt“ 3 Tr. der aufgekochten „Lab-Lösung“ (RG 5). Stellen Sie beide RG nach dem Vermischen der Inhalte für 10 min in ein 37 °C-Wasserbad und notieren Sie alle 2 min ihre Beobachtungen.



Stationenlernen Enzymversuche

S II

Station 1: Anorganischer Katalysator und Biokatalysator „Katalase“

Grundlagen: Katalasen sind Enzyme, die das bei der Zellatmung anfallende Zellgift Wasserstoffperoxid in Wasser und Sauerstoff spalten und damit eliminieren.[1] Das Enzym kommt in allen pflanzlichen und tierischen Organen vor, besonders in der Leber und in den Erythrozyten.

Aufgaben: [2,3]

1. Führen Sie den Versuch durch. **Vorsicht: Wasserstoffperoxid ist ätzend! Bei Hautkontakt sofort mit Wasser spülen.** Protokollieren Sie die Beobachtungen.
2. Formulieren Sie die Reaktionsgleichung für die Zersetzung von Wasserstoffperoxid.
3. Veranschaulichen Sie ihre Versuchsergebnisse, indem Sie den Reaktionsverlauf unter Verwendung verschiedener Farben in ein Energie-Zeit-Diagramm einzeichnen.
Ordinate: Energie
Abszisse: Reaktionsverlauf
4. Stellen Sie Ihre Ergebnisse und Erkenntnisse dem Plenum vor.

Materialien: 5 Reagenzgläser (RG), RG-Ständer, Knoblauchpresse, kleines Becherglas, Spatel, Messer, Glimmspan, Brenner, Schutzbrille.
Wasserstoffperoxid-Lösung (w = 10 %), Braunstein MnO_2 , Kartoffel, Trockenhefe.

Durchführung: Schutzbrille!

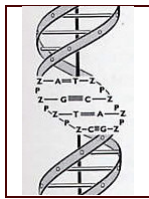
Füllen Sie in jedes der 5 RG etwa 2 mL (eine Daumenbreite) Wasserstoffperoxid-Lösung ein.

- RG 1: Dient zum Vergleich.
- RG 2: Spatelspitze MnO_2 zufügen.
- RG 3: Kartoffelstückchen zufügen und umschütteln.
- RG 4: Frisch gepressten Kartoffelbrei (Knoblauchpresse) zufügen und umschütteln.
- RG 5: Spatelspitze Trockenhefe zufügen und umschütteln.
- Weisen Sie das entstehende Gas nach! (Wie?)

Auswertung:

- Lit.: [1] Ohne Titel, http://sbg.ac.at/plus/plus_4_98/nw/breitenbach.html (10.08.2003)
[2] B.Blume: Biologieaufgabe: Katalase; berndblume@t-online.de
[3] S.Eberhardt: Die Behandlung von Enzymen im GK 12, Zulassungsarbeit Kurs 98/II; eberhardt_sandra@hotmail.com

StD Gerhard Braun, Gymnasium bei St. Michael Schwäbisch Hall, Tüngentaler Str. 92, 74523 Schwäbisch Hall; mail@braun-sha.de ; 2001



Stationenlernen Enzymversuche

S II

Station 2: Die pH-Abhängigkeit der Enzymwirkung

Grundlagen: Sie arbeiten mit Trockenhefe. Diese enthält Katalase. Katalasen sind Enzyme, die das bei der Zellatmung anfallende Zellgift Wasserstoffperoxid in Wasser und Sauerstoff spalten und damit eliminieren.[1] Das Enzym kommt in allen pflanzlichen und tierischen Organen vor, besonders in der Leber und in den Erythrozyten.

Aufgaben: [2]

1. Führen Sie den Versuch durch. **Vorsicht: Wasserstoffperoxid ist ätzend! Bei Hautkontakt sofort mit Wasser spülen.** Protokollieren Sie die Beobachtungen.
2. Was schließen Sie aus den Versuchsergebnissen?
3. Stellen Sie Ihre Ergebnisse und Erkenntnisse dem Plenum vor.

Materialien: 3 Reagenzgläser (RG), RG-Ständer, Spatel.

Trockenhefe, Wasserstoffperoxid-Lösung (w = 10 %), verd. Salzsäure, verd. Natronlauge, Universalindikatorpapier.

Durchführung: Schutzbrille!

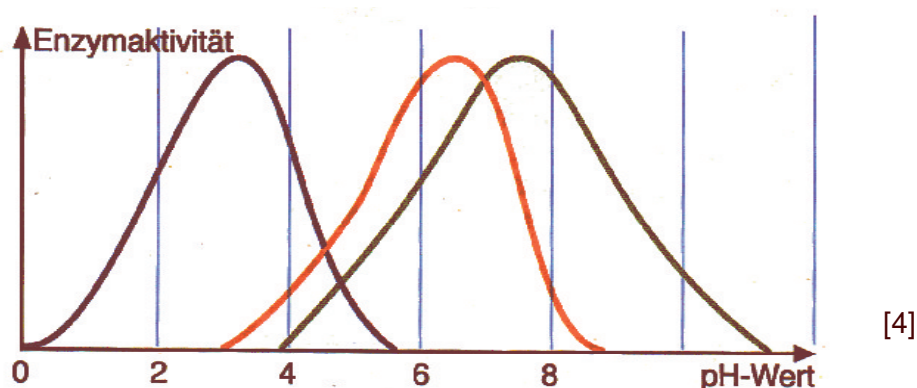
Bereiten Sie 3 RG mit je einer Spatelspitze Trockenhefe vor.

- RG 1: + ca. 2 mL (eine Daumenbreite) verdünnte Salzsäure, umschütteln und etwa 5 min lang einwirken lassen
- RG 2: + ca. 2 mL verdünnte Natronlauge, umschütteln und etwa 5 min lang einwirken lassen
- RG 3: + ca. 2 mL Leitungswasser, umschütteln und etwa 5 min lang einwirken lassen.
- Prüfen Sie zwischenzeitlich den pH-Wert von Salzsäure, Natronlauge und Leitungswasser.
- Fügen Sie dann zu allen 3 RG je 1 mL Wasserstoffperoxid-Lösung zu.

Auswertung:

Zusatzaufgabe: Amylase, Pepsin und Trypsin sind Verdauungsenzyme, die unterschiedliche Nahrungsbestandteile in unserem Körper abbauen.

Ordnen Sie die drei Enzyme den entsprechenden Kurven im Diagramm (s. unten) zu. Bedenken Sie dabei, in welchem Milieu die Enzyme jeweils ihre optimale Wirkung entfalten. [3]



Tipp: Die oben genannten Enzyme wirken im Mund, im Magen bzw. im Dünndarm.

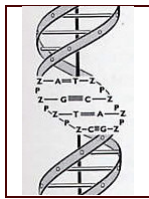
Lit.: [1] Ohne Titel, http://sbg.ac.at/plus/plus_4_98/nw/breitenbach.html (10.08.2003)

[2] B.Blume: Biologieaufgabe: Katalase; berndblume@t-online.de

[3] S.Eberhardt: Die Behandlung von Enzymen im GK 12, Zulassungsarbeit Kurs 98/II; eberhardt_sandra@hotmail.com

[4] H.Bayrhuber, U.Kull: Linder Biologie, 21. Aufl.,1998, Abb.122.2

StD Gerhard Braun, Gymnasium bei St. Michael Schwäbisch Hall, Tüngentaler Str. 92, 74523 Schwäbisch Hall; mail@braun-sha.de; 2001



Stationenlernen Enzymversuche

S II

Station 3: Temperaturabhängigkeit der Enzymwirkung

Grundlagen: Sie arbeiten mit Trockenhefe. Diese enthält Katalase. Katalasen sind Enzyme, die das bei der Zellatmung anfallende Zellgift Wasserstoffperoxid in Wasser und Sauerstoff spalten und damit eliminieren.[1] Das Enzym kommt in allen pflanzlichen und tierischen Organen vor, besonders in der Leber und in den Erythrozyten.

Aufgaben: [2]

1. Führen Sie den Versuch durch. **Vorsicht: Wasserstoffperoxid ist ätzend! Bei Hautkontakt sofort mit Wasser spülen.** Protokollieren Sie die Beobachtungen.
2. Was schließen Sie aus den Versuchsergebnissen?
3. Stellen Sie Ihre Ergebnisse und Erkenntnisse dem Plenum vor.

Materialien: 4 Reagenzgläser (RG), RG-Ständer, Spatel, Schutzbrille, 3 x 400-mL-Bechergläser (für Wasserbäder 0 °C, 20 °C, 37 °C), 3 Thermometer, Brenner, RG-Klammer. Trockenhefe, Wasserstoffperoxid-Lösung (w = 10 %), Eis, Universalindikatorpapier.

Durchführung: Schutzbrille!

Bereiten Sie 4 RG vor:

- RG 1: + Spatelspitze Trockenhefe + ca. 1 mL (halbe Daumenbreite) Leitungswasser. Kochen Sie den RG-Inhalt kurz auf und lassen Sie es danach abkühlen.
- RG 2: + ca. 1 mL Leitungswasser + ca. 2 mL Wasserstoffperoxid-Lösung, 5 min lang in Eiswasser stellen.
- RG 3: + ca. 1 mL Leitungswasser + ca. 2 mL Wasserstoffperoxid-Lösung, 5 min lang in Wasserbad mit der Temperatur des Leitungswassers stellen.
- RG 4: + ca. 1 mL Leitungswasser + ca. 2 mL Wasserstoffperoxid-Lösung, 5 min lang in Wasserbad mit 37 °C stellen.
- Fügen Sie zu RG 1 ca. 2 mL Wasserstoffperoxid-Lösung und zu den RG 2-4 je 1 Spatelspitze Trockenhefe hinzu und vergleichen Sie nach kurzem Schütteln die Intensität der Gasentwicklung.

Auswertung:

Zusatzaufgabe: [3]

Bei welcher Temperatur „arbeiten“ die Enzyme unseres Körpers wohl am besten?

Die Reaktionsgeschwindigkeit chemischer Reaktionen nimmt mit steigender Temperatur entsprechend der RGT-Regel zu. Wie lautet diese Regel?

Bei biochemischen Reaktionen (Enzymreaktionen) verhält sich die Reaktionsgeschwindigkeit ab einer bestimmten Temperatur anders. Dies geht aus der folgenden Grafik [4] hervor.

Begründen Sie den Sachverhalt!

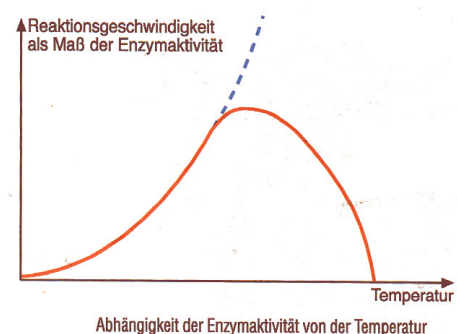
Lit.: [1] Ohne Titel,

http://sbg.ac.at/plus/plus_4_98/nw/breitenbach.html (10.08.2003)

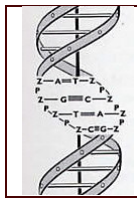
[2] B.Blume: Biologieaufgabe: Katalase; berndblume@t-online.de

[3] S.Eberhardt: Die Behandlung von Enzymen im GK 12, Zulassungsarbeit Kurs 98/II; eberhardt_sandra@hotmail.com

[4] H.Bayrhuber, U.Kull: Linder Biologie, 21. Aufl.,1998, Abb.122.1



StD Gerhard Braun, Gymnasium bei St. Michael Schwäbisch Hall, Tüngentaler Str. 92, 74523 Schwäbisch Hall; mail@braun-sha.de; 2001

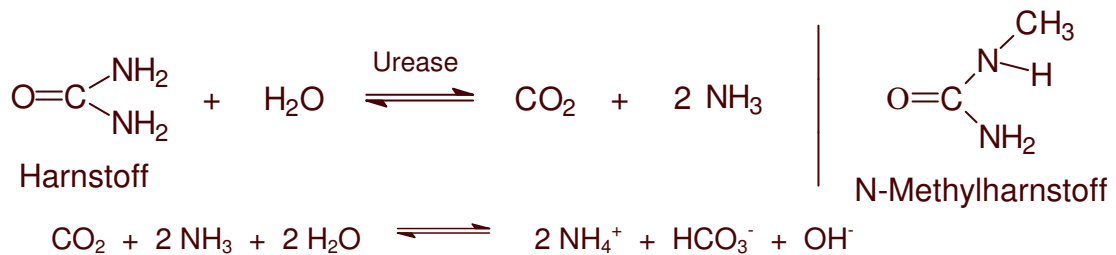


Stationenlernen Enzymversuche

S II

Station 4: Substratspezifität der Urease [1]

Grundlagen: Urease kommt in vielen Pflanzen, Schimmelpilzen und Bodenbakterien vor. Der Ammoniakgeruch von Gülle hat seinen Grund im bakteriellen, enzymatischen Harnstoffabbau nach folgenden Reaktionen:



Aufgaben:

1. Führen Sie den Versuch durch und protokollieren Sie die Beobachtungen.
2. Was schließen Sie aus den Versuchsergebnissen?
3. Stellen Sie Ihre Ergebnisse und Erkenntnisse dem Plenum vor.

Materialien: 3 Reagenzgläser (RG), RG-Ständer, Armbanduhr oder Stoppuhr.

Frische Lösungen von Harnstoff (w = 2 %) und N-Methylharnstoff (w = 2 %), Phenolphthalein-Lösung, Urease-Suspension (w = 0,1 %) in Tropfflaschen.

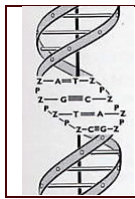
Durchführung: Bereiten Sie 5 RG vor:

- RG 1: Ca. 2 mL (eine Daumenbreite) Harnstoff-Lösung + 2 Tr. Phenolphthalein
- RG 2: Ca. 2 mL Harnstoff-Lösung + 2 Tr. Phenolphthalein
- RG 3: Ca. 2 mL N-Methylharnstoff-Lösung + 2 Tr. Phenolphthalein
- Geben Sie zu den Versuchsansätzen in RG 2 und RG 3 zeitgleich je 1 mL Urease-Suspension und schütteln Sie kurz um. Stoppen Sie die Zeit bis zur Pinkfärbung des Inhalts.

Auswertung:

Lit.: [1] R.Blume: <http://dc2.uni-bielefeld.de/dc2/katalyse/vkat-013.htm> (09.09.2001), verändert

StD Gerhard Braun, Gymnasium bei St. Michael Schwäbisch Hall, Tüngentaler Str. 92, 74523 Schwäbisch Hall; mail@braun-sha.de ; 2001

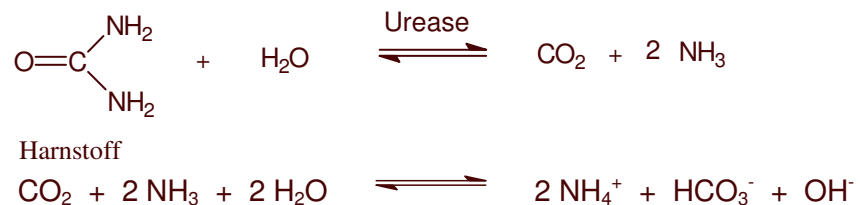


Stationenlernen Enzymversuche

S II

Station 5: Substrathemmung der Urease [1]

Grundlagen: Urease kommt in vielen Pflanzen, Schimmelpilzen und Bodenbakterien vor. Der Ammoniakgeruch von Gülle hat seinen Grund im bakteriellen, enzymatischen Harnstoffabbau nach folgenden Reaktionen:



Aufgaben:

1. Führen Sie den Versuch durch und protokollieren Sie die Beobachtungen.
2. Was schließen Sie aus den Versuchsergebnissen?
3. Stellen Sie Ihre Ergebnisse und Erkenntnisse dem Plenum vor.

Materialien: 3 Reagenzgläser (RG), RG-Ständer, Armbanduhr oder Stoppuhr.
Frische Harnstofflösung (w = 2 %), gesättigte Harnstofflösung (w = 50 %),
Phenolphthalein-Lösung, Urease-Suspension (w = 0,1 %) in Tropfflaschen.

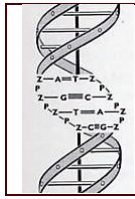
Durchführung: Bereiten Sie 5 RG vor:

- RG 1: Ca. 2 mL (eine Daumenbreite) Harnstoff-Lösung (w = 2 %) + 2 Tr. Phenolphthalein
- RG 2: Ca. 2 mL Harnstoff-Lösung (w = 2 %) + 2 Tr. Phenolphthalein
- RG 3: Ca. 2 mL Harnstoff-Lösung (w = 50 %) + 2 Tr. Phenolphthalein
- Geben Sie zu den Versuchsansätzen in RG 2 und RG 3 zeitgleich je 1 mL Urease-Suspension und schütteln Sie kurz um. Stoppen Sie die Zeit bis zur Pinkfärbung des Inhalts.

Auswertung:

Lit.: [1] R.Blume: <http://dc2.uni-bielefeld.de/dc2/katalyse/vkat-013.htm> (09.09.2001), verändert

StD Gerhard Braun, Gymnasium bei St. Michael Schwäbisch Hall, Tüngentaler Str. 92, 74523 Schwäbisch Hall; mail@braun-sha.de ; 2001

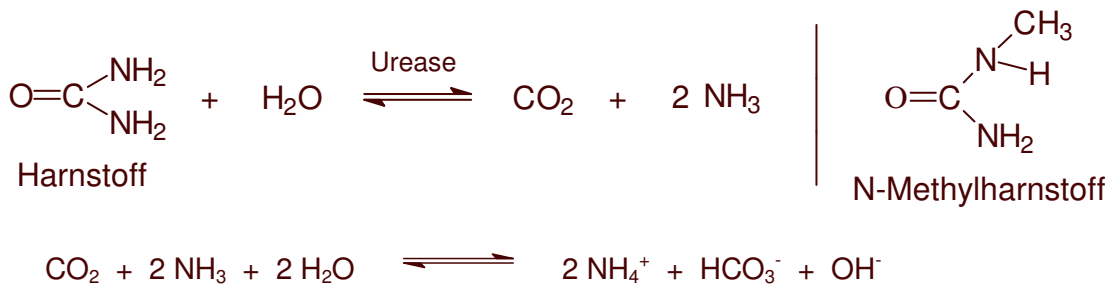


Stationenlernen Enzymversuche

S II

Station 6: Kompetitive Hemmung der Urease [1]

Grundlagen: Urease kommt in vielen Pflanzen, Schimmelpilzen und Bodenbakterien vor. Der Ammoniakgeruch von Gülle hat seinen Grund im bakteriellen, enzymatischen Harnstoffabbau nach folgenden Reaktionen:



Aufgaben:

1. Führen Sie den Versuch durch und protokollieren Sie die Beobachtungen.
2. Was schließen Sie aus den Versuchsergebnissen?
3. Stellen Sie Ihre Ergebnisse und Erkenntnisse dem Plenum vor.

Materialien: 5 Reagenzgläser (RG), RG-Ständer, weiße Unterlage (z.B. Heft).

Frische Lösungen von Harnstoff (w = 1 %) und N-Methylharnstoff (w = 5%), Phenolphthalein-Lösung, Urease-Suspension (w = 0,1 %) und dest. Wasser in Tropfflaschen.

Durchführung: Bereiten Sie 5 RG vor:

- RG 1: Ca. 2 mL (eine Daumenbreite) Harnstoff-Lösung + 3 Tr. Phenolphthalein
- RG 2a: Ca. 2 mL Harnstoff-Lösung + 2 mL dest. Wasser + 3 Tr. Phenolphthalein
- RG 3a: Ca. 2 mL Harnstoff-Lösung + 2 mL N-Methylharnstoff-Lösung + 3 Tr. Phenolphthalein
- RG 2b und RG 3b: Je ca. 1 mL Urease-Suspension.
- Gießen Sie die Urease-Suspensionen (RG 2b und RG 3b) zeitgleich zu den Versuchsansätzen von RG 2a und RG 3a. Beobachten Sie beide Versuchsansätze über einer weißen Unterlage.

Auswertung:

Lit.: [1] R.Blume: <http://dc2.uni-bielefeld.de/dc2/katalyse/vkat-013.htm> (09.09.2001), verändert

StD Gerhard Braun, Gymnasium bei St. Michael Schwäbisch Hall, Tüngentaler Str. 92, 74523 Schwäbisch Hall; mail@braun-sha.de ; 2001

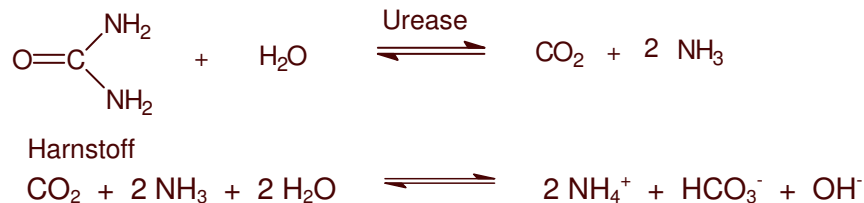


Stationenlernen Enzymversuche

S II

Station 7: Einfluss von Salzen auf Urease [1]

Grundlagen: Urease kommt in vielen Pflanzen, Schimmelpilzen und Bodenbakterien vor. Der Ammoniakgeruch von Gülle hat seinen Grund im bakteriellen, enzymatischen Harnstoffabbau nach folgenden Reaktionen:



Aufgaben:

1. Führen Sie den Versuch durch und protokollieren Sie die Beobachtungen.
2. Was schließen Sie aus den Versuchsergebnissen?
3. Stellen Sie Ihre Ergebnisse und Erkenntnisse dem Plenum vor.

Materialien: 10 Reagenzgläser (RG), RG-Ständer, Lösungen in Tropfflaschen. Harnstoff-Lösung (w = 2 %), Schwermetallsalz-Lösungen (c = 0,1 mol/L) von z.B. Kupfersulfat, Nickel(II)-chlorid (Xi), Zink(II)-sulfat usw., Kochsalzlösung (c = 0,1 mol/L), Phenolphthalein-Lösung, Urease-Suspension (w = 0,1 %).

Zur Herstellung von 100 mL Salzlösung (c = 0,1 mol/L) benötigt man:

- 2,50 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ [Xn, N]
- 2,37 g $\text{NiCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ [T]
- 2,88 g $\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ [Xi, N]
- 0,58 g NaCl

Durchführung: Bereiten Sie 5 RG vor:

- RG 1: Ca. 1 mL (halbe Daumenbreite) Urease-Suspension
- RG 2: Ca. 1 mL Urease-Suspension + 3 Tr. Kupfersalzlösung
- RG 3: Ca. 1 mL Urease-Suspension + 3 Tr. Nickelsalzlösung
- RG 4: Ca. 1 mL Urease-Suspension + 3 Tr. Zinksalzlösung
- RG 5: Ca. 1 mL Urease-Suspension + 3 Tr. Kochsalzlösung

Lassen Sie die Salzlösungen 2-3 min lang einwirken!

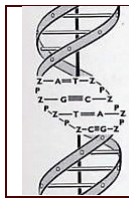
Während dieser Einwirkzeit bereiten Sie 5 weitere RG mit je 2 mL Harnstofflösung (eine Daumenbreite) und 2 Tr. Phenolphthalein vor.

Danach gießen Sie die Harnstofflösungen zu den Urease-Suspensionen und schütteln kurz um.

Auswertung:

Lit.: [1] R.Blume: <http://dc2.uni-bielefeld.de/dc2/katalyse/vkat-018.htm> (09.09.2001), verändert

StD Gerhard Braun, Gymnasium bei St. Michael Schwäbisch Hall, Tüngentaler Str. 92, 74523 Schwäbisch Hall; mail@braun-sha.de ; 2001

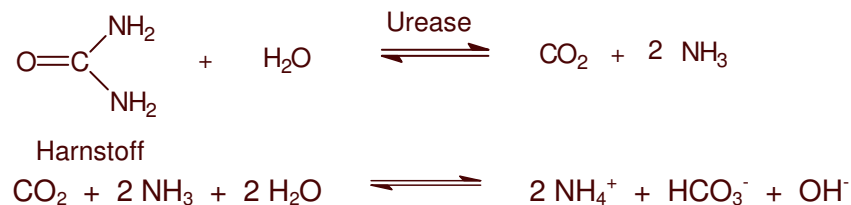


Stationenlernen Enzymversuche

S II

Station 8: Gegenmaßnahmen bei Schwermetallvergiftungen [1]

Grundlagen: Urease kommt in vielen Pflanzen, Schimmelpilzen und Bodenbakterien vor. Der Ammoniakgeruch von Gülle hat seinen Grund im bakteriellen, enzymatischen Harnstoffabbau nach folgenden Reaktionen:



Aufgaben:

1. Führen Sie den Versuch durch und protokollieren Sie die Beobachtungen.
2. Was schließen Sie aus den Versuchsergebnissen?
3. Stellen Sie Ihre Ergebnisse und Erkenntnisse dem Plenum vor.

Materialien: 8 Reagenzgläser (RG), mehrere RG-Ständer, Lösungen in Tropfflaschen. Harnstofflösung (w = 5 %), Kupfer(II)-sulfatlösung (c = 0,001 mol/L), Phenolphthalein-Lösung, EDTA-Lösung (c = 0,1 mol/L, Dinatriumsalz), Cystein-Lösung (c = 0,1 mol/L), Urease-Suspension (w = 0,1 %), Aqua dest.

Zur Herstellung von 100 mL Lösung mit oben angegebener Konzentration benötigt man:

- 0,025 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ [Xn, N]
- 3,72 g EDTA-Dinatriumsalz
- 1,21 g Cystein

Durchführung: Bereiten Sie 4 RG vor:

- RG 1a: Ca. 1 mL (halbe Daumenbreite) Urease-Suspension .
- RG 2a: Ca. 1 mL Urease-Suspension + 3 Tr. Kupfer(II)-sulfatlösung.
- RG 3a: Ca. 1 mL Urease-Suspension + 3 Tr. Kupfer(II)-sulfatlösung.
- RG 4a: Ca. 1 mL Urease-Suspension + 3 Tr. Kupfer(II)-sulfatlösung.

Lassen Sie die Kupfer(II)-sulfatlösungen 2-3 min lang einwirken!

Während dieser Einwirkzeit werden 4 weitere RG vorbereitet:

- RG 1b: Ca. 2 mL (eine Daumenbreite) Harnstofflösung + 3 Tr. Phenolphthalein + 1 mL H_2O .
- RG 2b: wie RG 1b.
- RG 3b: Ca. 2 mL Harnstofflösung + 3 Tr. Phenolphthalein + 1 mL EDTA-Lösung.
- RG 4b: Ca. 2 mL Harnstofflösung + 3 Tr. Phenolphthalein + 1 mL Cysteinlösung.

Dann gießen Sie die Harnstofflösungen zu den Urease-Suspensionen (RG 1b → RG 1a, RG 2b → RG 2a, usw.).

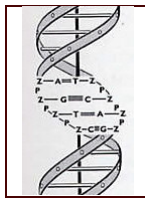
Notieren Sie die Beobachtungen nach 5, 10 und 15 Minuten.

Nehmen Sie den RG-Ständer der Station 8 für die weitere Beobachtung zur nächsten Station mit!

Auswertung:

Lit.: [1] R.Blume: <http://dc2.uni-bielefeld.de/dc2/katalyse/vkat-030.htm> (09.09.2001), verändert

StD Gerhard Braun, Gymnasium bei St. Michael Schwäbisch Hall, Tüngentaler Str. 92, 74523 Schwäbisch Hall; mail@braun-sha.de ; 2002

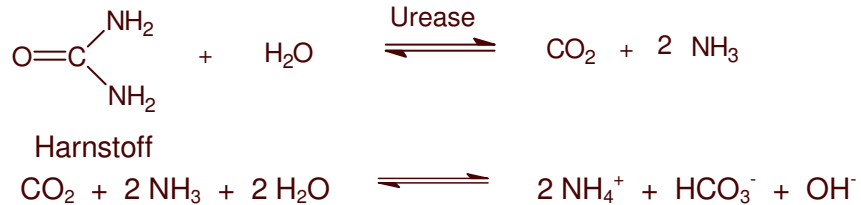


Stationenlernen Enzymversuche

S II

Station 9a: Enzymatischer Abbau von Harnstoff – Messwerterfassung mit dem Computer

Grundlagen: Urease kommt in vielen Pflanzen, Schimmelpilzen und Bodenbakterien vor. Der Ammoniakgeruch von Gülle hat seinen Grund im bakteriellen, enzymatischen Harnstoffabbau nach folgenden Reaktionen:



Der Verlauf des Harnstoffabbaus kann durch die Veränderung der elektrischen Leitfähigkeit der Lösung verfolgt werden.

Aufgaben:

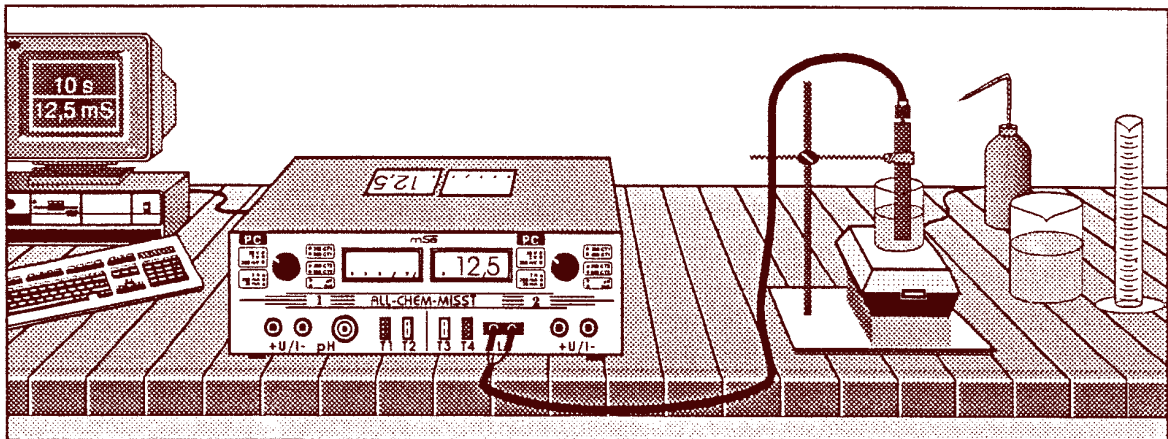
1. Führen Sie den Versuch durch und protokollieren Sie die Beobachtungen.
2. Was schließen Sie aus den Versuchsergebnissen?
3. Stellen Sie Ihre Ergebnisse und Erkenntnisse dem Plenum vor.

Materialien: 20-mL-Schnappdeckelglas, Rührfisch, Magnetstab, Stativmaterial, Magnetrührer, Leitfähigkeitsmesszelle, Messwandler (z.B. ALL-CHEM-MISST), Computer mit geeigneter Software (z.B. AK Analytik Professional oder AK Analytik 32), Drucker, 2-mL- und 10-mL-Pipette, Pipettierhilfe, 100-mL-Becherglas (zum Spülen der Messzelle).

Bei Messung der Temperaturabhängigkeit der Enzymaktivität (siehe Hinweis): Kristallisierschale für Wasserbad, Kontaktthermometer.

Harnstoff-Lösung (w = 2 %), Urease-Suspension (w = 0,1 %), dest. Wasser.

Versuchsaufbau: [1]



Voreinstellungen am ALL-CHEM-MISST und am Computer: [2]

- ALL-CHEM-MISST: Leitfähigkeitsmesszelle anschließen, Messbereich 200 mS und PC einstellen
- Messgröße: Leitfähigkeit
- Wandler / Kanal: ACM L 200 mS
- Darstellung: Grafik- und Digitalanzeige
- X-Achse: Zeit, Zeitintervall: 1 s, x-Bereichsobergrenze: 300 s
- Y-Achse: Leitwert, Einheit: mS
- Y-Bereichsobergrenze: 2
- Y-Nachkommastellen: 3

Durchführung: [2]

- Pipettieren Sie 10 mL Harnstofflösung in das Schnappdeckelglas mit Rührfisch.
- Schalten Sie dann den Magnetrührer ein und prüfen die Leitfähigkeit mit dem Leitfähigkeitsprüfer. Der Computer zeigt die Leitfähigkeit digital in mS (Millisiemens) an.
- Wenn die Leitfähigkeit konstant bleibt, geben Sie 2 mL Urease-Suspension zu und klicken mit der Maustaste das grüne Feld „Start“ an.
- Die Änderung der Leitfähigkeit wird sowohl grafisch in einem Diagramm als auch digital auf dem Monitor aufgezeichnet. Klicken Sie nach Ablauf der Messzeit von 300 s mit der Maustaste das Feld „beenden“ an.
- Daten speichern
- Gehen Sie mit der Maustaste auf die Symbolleiste und klicken Sie unter „Messen“ „Messreihe aufnehmen“ an.
- Spülen Sie die Leitfähigkeitsmesszelle mit dest. Wasser, damit sie für den nächsten Versuch einsatzbereit ist.

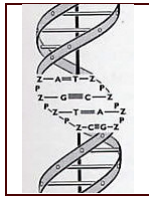
Hinweis: Der Versuch kann bei verschiedenen Temperaturen (40 °C, 60 °C, 80 °C, 100 °C) wiederholt werden.

Auswertung:

Lit.: [1] F.Kapenberg: Versuchsordner des Arbeitskreises „Computer im Chemieunterricht“, 1997

[2] S.Eberhardt: Die Behandlung von Enzymen im GK 12, Zulassungsarbeit Kurs 98/II;
eberhardt_sandra@hotmail.com, verändert

StD Gerhard Braun, Gymnasium bei St. Michael Schwäbisch Hall, Tüngentaler Str. 92, 74523 Schwäbisch Hall; mail@braun-sha.de ; 2001

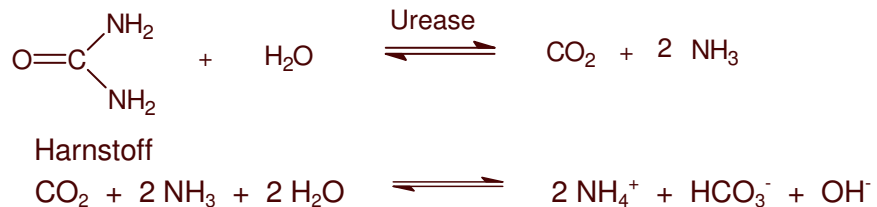


Stationenlernen Enzymversuche

S II

Station 9b: Enzymatischer Abbau von Harnstoff – pH-Messung

Grundlagen: Urease kommt in vielen Pflanzen, Schimmelpilzen und Bodenbakterien vor. Der Ammoniakgeruch von Gülle hat seinen Grund im bakteriellen, enzymatischen Harnstoffabbau nach folgenden Reaktionen:



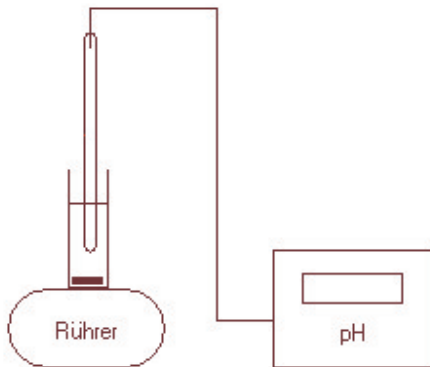
Der Verlauf des Harnstoffabbaus kann durch die Veränderung des pH-Wertes der Lösung verfolgt werden.

Aufgaben:

1. Führen Sie den Versuch durch und protokollieren Sie die Beobachtungen.
2. Was schließen Sie aus den Versuchsergebnissen?
3. Stellen Sie Ihre Ergebnisse und Erkenntnisse dem Plenum vor.

Materialien: 20-mL-Schnappdeckelglas, Rührfisch, Magnetstab, Stativmaterial, Magnetrührer, Stativmaterial, pH-Meter, 2-mL- und 10-mL-Pipette, Pipettierhilfe, Stoppuhr oder Armbanduhr. Harnstoff- Lösung (w = 2 %), Urease-Suspension (w = 0,1 %), dest. Wasser, Pufferlösungen zum Eichen des pH-Meters.

Durchführung:



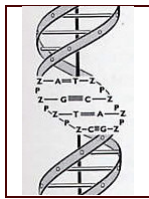
- Pipettieren Sie 10 mL Harnstofflösung in das Glasgefäß mit Rührfisch.
- Schalten Sie den Magnetrührer ein und protokollieren Sie vor der Zugabe der Urease-Suspension den pH-Wert der Lösung → Wertetabelle: pH bei t = 0.
- Nach Zugabe von 2 mL Urease-Suspension starten Sie die Stoppuhr.
- Protokollieren Sie alle 10 s den pH-Wert. Die Messung wird beendet, wenn sich der pH-Wert nicht mehr ändert.
- Lassen Sie nach dem Spülen die pH-Elektrode im dest. Wasser stehen, damit sie für den nächsten Versuch einsatzbereit bleibt. **pH-Meter bitte nicht ausschalten!**

Messwerte:

Zeit t in s	0	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	110	120
pH													
Zeit t in s	X	130	140	150	160	170	180	190	200	210	220	230	240
pH													

Auswertung:

StD Gerhard Braun, Gymnasium bei St. Michael Schwäbisch Hall, Tüngentaler Str. 92, 74523 Schwäbisch Hall; mail@braun-sha.de ; 2001



Stationenlernen Enzymversuche

S II

Station 10: Was haben Enzyme mit Käse zu tun?

Grundlagen: Das Enzym **Chymosin** (auch Labferment oder Rennin genannt) aus Kälbermagen wird biotechnologisch zur Gerinnung von Milch verwendet. Chymosin ist eine Protease. Es spaltet vom Hauptprotein der Milch, dem löslichen **Casein**, an einer bestimmten Stelle ein Peptid ab, so dass unlösliches Casein entsteht. Das Casein fällt aus, die Milch gerinnt.

Diese Reaktion ist im Kälbermagen der erste Schritt zur Verdauung der Milchproteine. In der Nahrungsmittelindustrie wird er zur Käseherstellung genutzt. Heute wird überwiegend gentechnisch hergestelltes Chymosin eingesetzt. [1]

Aufgaben:

1. Führen Sie den Versuch durch und protokollieren Sie die Beobachtungen.
2. Was schließen Sie aus den Versuchsergebnissen?
3. Wenn man bei diesem Versuch neben pasteurisierter Milch H-Milch einsetzt, erkennt man deutlich, dass H-Milch sehr viel schlechter gerinnt als pasteurisierte Milch. H-Milch ist in der Molkerei 2-5 Stunden lang auf 85 °C erhitzt worden. Erklären Sie dieses Versuchsergebnis!
4. Stellen Sie Ihre Ergebnisse und Erkenntnisse dem Plenum vor.

Materialien: 3 Reagenzgläser (RG), RG-Ständer, 37 °C-Wasserbad, Thermometer, 5-mL-Pipette, Pipettierhilfe, 2 Tropfpipetten, Mörser + Pistill, Brenner, RG-Klammer, Armbanduhr oder Stoppuhr. Frische pasteurisierte Milch, Hobbythek-Labtableten.

Durchführung: Schutzbrille!

Beschriften Sie 3 RG mit „Lab“, „Lab erhitzt“ und „K“ für Kontrolle.

Stellen Sie diese 3 RG mit 2 mL (eine Daumenbreite) frischer, pasteurisierter Milch in ein Wasserbad mit 37 °C.

RG 4: Eine halbe, im Mörser zerriebene Hobbythek-Labtablette in 2 mL (eine Daumenbreite) Leitungswasser auflösen und den Inhalt von RG 4 auf RG 4 und RG 5 verteilen.

RG 5: Die Enzymlösung etwa 1 min lang aufkochen.

Geben Sie zum RG „Lab“ 3 Tr. der nicht erhitzten „Lab-Lösung“ (RG 4) und ins RG „Lab erhitzt“ 3 Tr. der aufgekochten „Lab-Lösung“ (RG 5). Stellen Sie beide RG nach dem Vermischen der Inhalte für 10 min in ein 37 °C-Wasserbad und notieren Sie alle 2 min ihre Beobachtungen.

Versuchsergebnisse:

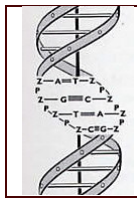
- keine Gerinnung
- + schwache Gerinnung
- ++ starke Gerinnung

Zeit	Chymosin „Lab“	Chymosin erhitzt	Kontrolle
2 min			
4 min			
6 min			
8 min			
10 min			

Auswertung:

Lit.: [1] S.Eberhardt: Die Behandlung von Enzymen im GK 12, Zulassungsarbeit Kurs 98/II; eberhardt_sandra@hotmail.com, verändert

StD Gerhard Braun, Gymnasium bei St. Michael Schwäbisch Hall, Tüngentaler Str. 92, 74523 Schwäbisch Hall; mail@braun-sha.de ; 2001



Stationenlernen Enzymversuche

S II

Hinweise und Lösungen

Station 1: Anorganischer Katalysator und Biokatalysator „Katalase“

Beob.: RG1: - ; RG 2: starke Gasentwicklung, Inhalt erwärmt sich; RG 3: schwache Gasentwicklung; RG 4: starke Gasentwicklung, Inhalt erwärmt sich; RG 5: starke Gasentwicklung, Inhalt erwärmt sich; Glimmspanprobe positiv.

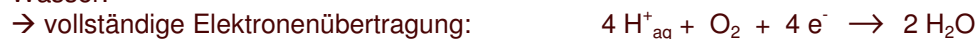
Auswertung: Der anorganische Katalysator Braunstein beschleunigt die Zersetzung von H_2O_2 , wobei Sauerstoff entsteht. In Kartoffeln und Trockenhefe ist der Biokatalysator Katalase enthalten, der ebenfalls die Zersetzung von H_2O_2 beschleunigt. Der frisch gepresste Kartoffelbrei hat eine viel größere Oberfläche als das Kartoffelstückchen, daher die stärkere Enzymwirkung.



Zu 3.: Energie-Zeit-Diagramm einer exothermen Reaktion ohne und mit Enzym.

Deutung der Enzymwirkung: Erniedrigung der Aktivierungsenergie durch anderen Reaktionsverlauf, Enzym-Substrat-Komplex.

Hinweis: Das Zellgift Wasserstoffperoxid entsteht im Zellstoffwechsel z.B. durch unvollständige Elektronenübertragung auf Sauerstoff. Bei vollständiger Elektronenübertragung auf Sauerstoff entsteht Wasser.



Die Katalasen verhindern durch die Zersetzung von H_2O_2 die Schädigung von Zellstrukturen.

Station 2: Die pH-Abhängigkeit der Enzymwirkung

Beob.: RG 1: pH 1, keine Veränderung

RG 2: pH 12, schwache Gasentwicklung

RG 3: pH 7, starke Gasentwicklung, leichte Erwärmung

Auswertung: Deutung der Ergebnisse mittels Schlüssel-Schloss-Prinzip. Bei zu niedrigem bzw. zu hohem pH-Wert wird die Tertiärstruktur des Enzyms verändert. Es kommt zu Protonenanlagerungen oder –abspaltungen an den funktionellen Gruppen $-\text{COO}^-$ und $-\text{NH}_3^+$ der Aminosäurereste. Dadurch verändern sich die innermolekularen Wechselwirkungen zwischen Aminosäureresten des Proteinmoleküls und somit dessen Struktur.

Zusatzaufgabe: Linke Kurve: Pepsin → Abbau von Eiweiß im Magen (pH 2 – 3).

Mittlere Kurve: Amylase des Mundspeichels → Abbau von Stärke im Mund (pH ≈ 7).

Rechte Kurve: Trypsin → Abbau von Eiweiß im Zwölffingerdarm (pH 8 – 9).

Weshalb verliert Pepsin im Dünndarm seine katalytische Aktivität?

Station 3: Die Temperaturabhängigkeit der Enzymwirkung

Beob.: RG 1: Keine Gasentwicklung

RG 2-4: Intensität der Gasentwicklung nimmt von 0 °C bis 37 °C zu

Auswertung: Katalase wird durch Kochen denaturiert, d.h. die Eiweißstruktur wird durch Überwinden von Innermolekularen Anziehungskräften (Van-der-Waals'Kräfte, Wasserstoffbrücken, Disulfidbrücken) irreversibel verändert.

Zusatzaufgabe: 37 °C, RGT-Regel, Deutung der Grafik:

1. Zunehmende Enzymaktivität gemäß der RGT-Regel

2. Optimale Enzymaktivität: ...

3. Abnehmende Enzymaktivität: Ab Übersteigen des Temperaturoptimums wird mit zunehmender Temperatur die Eiweißstruktur des Enzyms zunehmend verändert. Zunächst werden im Molekül Van-der-Waals'Kräfte überwunden, dann Wasserstoffbrücken und schließlich Disulfidbrücken zerstört.

4. Keine Enzymaktivität: Enzym denaturiert.

Station 4: Substratspezifität der Urease

Beob.: RG 1: Lösung bleibt farblos

RG 2: Beginnende Pinkfärbung nach 13 s → intensive Pinkfärbung

RG 3: Beginnende Pinkfärbung nach 150 s → schwache Pinkfärbung

Auswertung: Deutung der Ergebnisse mithilfe des Schlüssel-Schloss-Prinzips. Im Unterschied zu einem Harnstoffmolekül ist im N-Methylharnstoffmolekül ein H-Atom durch eine viel größere Methyl-Gruppe ersetzt. Daher passt N-Methylharnstoff nicht so gut ins aktive Zentrum der Urease wie Harnstoff.

Hinweis: Nach der Gefahrstoffverordnung ist der Versuch auch mit **Thioharnstoff** erlaubt, es wird aber auf eine Ersatzstoffprüfung hingewiesen. Der Ersatzstoff **N-Methylharnstoff** ist mit dem Gefahrensymbol **Xn** gekennzeichnet, **Thioharnstoff** mit **Xn und N**.

N bedeutet umweltschädlich, hier: Giftig für Wasserorganismen, kann in Gewässern längerfristig schädliche Wirkung haben.

Lösungen mit $w(\text{Thioharnstoff}) < 10\%$ müssen nicht mit einem Gefahrensymbol gekennzeichnet werden! Wird eine Thioharnstoff-Lösung anstelle der N-Methylharnstoff-Lösung (RG 3) eingesetzt, erfolgt in der üblichen Beobachtungszeit keine Pinkfärbung.

Station 5: Substrathemmung der Urease

Beob.: RG 1: Lösung bleibt farblos

RG 2: Beginnende Pinkfärbung nach 7 s

RG 3: Beginnende Pinkfärbung nach 200 s

Auswertung: Die Ureaseaktivität ist in 50 %-iger Harnstofflösung deutlich geringer als in 2 %-iger. Bei zu hoher Substratkonzentration wird das Enzym offensichtlich gehemmt.

Hinweis: Jedes Harnstoffmolekül hat im aktiven Zentrum der Urease offenbar mehr als eine Bindungsstelle. Bei zu hoher Harnstoffkonzentration konkurrieren mehrere Harnstoffmoleküle um das aktive Zentrum und behindern sich gegenseitig. Deshalb nimmt die Aktivität des Enzyms mit zunehmender Substratkonzentration zunächst zu, durchläuft ein Maximum und fällt dann wieder ab → Substrathemmung. [2]

Station 6: Kompetitive Hemmung der Urease

Beob.: RG 1: Lösung bleibt farblos

RG 2-3: Im RG 3 erfolgt die Pinkfärbung deutlich langsamer als im RG 2.

Auswertung: Die Moleküle von Harnstoff und N-Methylharnstoff sind ähnlich gebaut. Im RG 3 konkurrieren diese ähnlich gebauten Moleküle um das aktive Zentrum des Enzyms. Pro Zeiteinheit können folglich weniger Harnstoffmoleküle gespalten werden.

Hinweis: Ähnlich gebaut sind Harnstoff, Thioharnstoff, N-Methylharnstoff und N,N-Dimethylharnstoff. Die kompetitive Hemmung ist für die Arzneimittelindustrie wichtig. Beispielsweise ist Atropin, das Gift der Tollkirsche, kompetitiver Hemmer der Acetylcholinesterase; es hat strukturelle Ähnlichkeiten mit deren Substrat, dem Acetylcholin. Es vermag die extreme Giftwirkung von Phosphorsäureestern wie E-605 zu mindern. [2]

Station 7: Einfluss von Salzen auf Urease

Beob.: RG 1 und RG 5: Pinkfärbung

RG 2-4: Lösungen bleiben farblos

Auswertung: Die Enzymaktivität von Urease wird durch Schwermetall-Ionen blockiert. Deutung mithilfe des Schlüssel-Schloss-Prinzips. Änderung der Tertiärstruktur durch ionische Wechselwirkungen z.B. zwischen Cu^{2+} und $-\text{COO}^-$ -Gruppen der Aminosäurereste.

Hinweis: Auf die Enzyme wirken aus dem Milieu heraus aktivierende und hemmende Stoffe ein. Stoffe, welche die Reaktionsgeschwindigkeit der enzymatischen Katalyse verringern, sind **Hemmstoffe** oder **Inhibitoren**. Wenn der Hemm-Mechanismus zu irreversiblen Veränderungen führt, spricht man von **Giften**. Die Übergänge zwischen Hemmung und Vergiftung sind aber fließend. Angriffspunkte für Inhibitoren können alle biochemisch relevanten Moleküle sein: Nucleinsäuren, Enzyme und deren Coenzyme sowie die Substrate.

Bei Urease zeigen vor allem die komplexbildenden Schwermetall-Ionen wie Cu^{2+} und Ni^{2+} Giftwirkung. Blei-Ionen (Pb^{2+}) sind für Urease dagegen kein Gift.

Das aktive Zentrum der Urease

Bemerkenswert hinsichtlich der Hemmbarkeit durch Schwermetalle ist der Aufbau des aktiven Zentrums. Hier befinden sich äußerst eng benachbart zwei komplex gebundene Nickel(II)-Ionen, an die je ein Molekül Wasser und Harnstoff gebunden sind (Bild 1). Die Metall-Ionen sorgen für exakte sterische Ausrichtung der Moleküle der beiden Reaktionspartner Wasser und Harnstoff und für die Polarisierung von Bindungen.

Bei der Reaktion spielen noch eine benachbarte Base und eine Säure eine wichtige Rolle: Das Wassermolekül wird unter Einfluss der Base in ein Hydroxid-Ion verwandelt, und das Harnstoffmolekül wird am Sauerstoffatom durch die Säure protoniert. Dadurch wird sein C-Atom stärker positiv geladen, das benachbarte OH^- -Ion kann nucleophil angreifen (Bild 2). Simultan spaltet ein Ammoniakmolekül ab. Es entsteht die instabile Carbaminsäure NH_2COOH , die spontan unter Bildung eines weiteren Moleküls Ammoniak und Kohlenstoffdioxid zerfällt (Bild 3).

Nun kann das Enzym wieder mit einem Molekül Wasser und einem Molekül Harnstoff beladen werden, und der Reaktionszyklus beginnt von neuem.

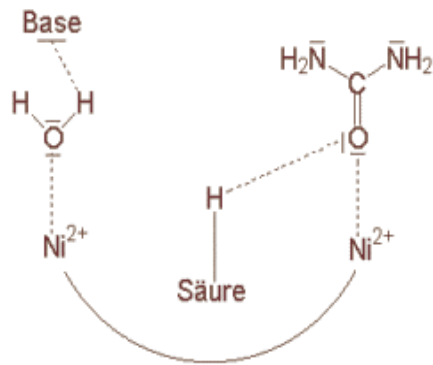


Bild 1

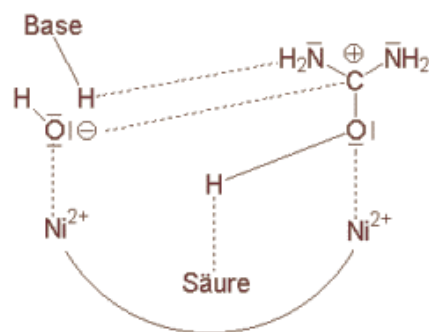


Bild 2

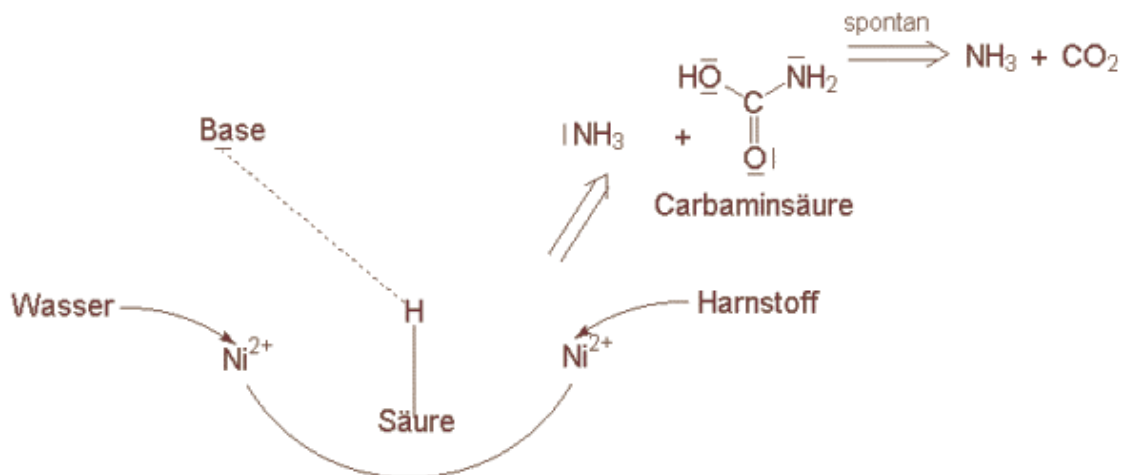


Bild 3

Bild 1-3: Mechanismus der Hydrolyse von Harnstoff durch die Urease

Letztlich findet die gleiche Reaktion statt, die bei der alkalischen Hydrolyse von Harnstoff im Reagenzglas abläuft. Auch hier verdrängt ein OH^- -Ion (bzw. ein Wassermolekül) ein Ammoniak-Molekül. Nur ist bei der Urease die sterische Ausrichtung im aktiven Zentrum so optimal, dass alle Bindungen simultan gelockert werden und damit die Aktivierungsenergie bedeutend verringert wird. Deshalb ist die enzymatische Reaktion um den Faktor 10^{14} schneller als die unkatalysierte. [2]

Station 8: Gegenmaßnahmen bei Schwermetallvergiftungen

Beob.: RG 1: Sofortige Pinkfärbung

RG 2: Inhalt bleibt weißlich trüb

RG 3: Inhalt zeigt nach 5 min einen schwachen Rotstich, nach 10 min bzw. 15 min ist die Pinkfärbung verstärkt

RG 4: Inhalt bereits nach 5 min rosa eingefärbt.

Auswertung: In RG 2 bleibt die Urease dauerhaft durch Cu^{2+} vergiftet. Die Aminosäure Cystein sowie EDTA sind in der Lage die Cu^{2+} -Ionen aus der vergifteten Urease herauszuholen und die Enzymaktivität wieder herzustellen.

Hinweis: Schwermetallvergiftungen von Enzymen sind oftmals reversibel, wenn man Komplexbildner wie EDTA oder die Aminosäure Cystein hinzufügt. Sie können die Schwermetall-Ionen durch Ausbildung von Chelatkomplexen stärker an sich binden als die Enzyme. Dies ist für medizinische Zwecke von großer Wichtigkeit. Allerdings ist eine Behandlung von Patienten mit Schwermetallvergiftung mit solchen Komplexbildnern nicht unproblematisch, da dem Körper dabei auch wichtige Mineralien wie Mg^{2+} entzogen werden.

Station 9a: Enzymatischer Abbau von Harnstoff – Messwerterfassung mit dem Computer

Beob.: Bei 20 °C: Linearer Anstieg der elektrischen Leitfähigkeit des Reaktionsansatzes.

Bei 40 °C oder 60 °C: Je höher die Reaktionstemperatur desto steiler der lineare Anstieg der elektr. Leitfähigkeit des Reaktionsansatzes.

Auswertung: Zunahme der Ionenkonzentrationen. RGT-Regel.

Versuch 9b: Enzymatischer Abbau von Harnstoff – pH-Meter

Beob.: Innerhalb weniger Minuten nimmt der pH-Wert von < 6 bis 9 zu.

Auswertung: Beim Harnstoffabbau entsteht Ammoniak, dessen wässrige Lösung alkalisch reagiert. Mit zunehmender NH_3 -Konzentration steigt anfangs auch die OH^- -Konzentration und damit der pH-Wert. Diskussion der Frage, weshalb der pH-Wert nach wenigen Minuten bei ≈ 9 konstant bleibt.

Station 10: Was haben Enzyme mit Käse zu tun?

Beob.:

Zeit	Chymosin	Chymosin erhitzt	Kontrolle
2 min	+	-	-
4 min	++	-	-
6 min	++	-	-
8 min	++	-	-
10 min	++	-	-

- = keine Gerinnung
+ = schwache Gerinnung
++ = starke Gerinnung

Auswertung: Chymosin wird durch Kochen denaturiert, d.h. die Eiweißstruktur wird durch Überwinden von innermolekularen Anziehungskräften (Van-der-Waals'Kräfte, Wasserstoffbrücken, Disulfidbrücken) irreversibel verändert. → Keine Enzymaktivität mehr, Schlüssel-Schloss-Prinzip.

Zu 3.: Chymosin ist eine Proteinase mit hoher Substratspezifität. Bei der H-Milch wurde ein Teil des löslichen Caseins durch das Erhitzen in seiner Raumstruktur so verändert, dass es zwar ausfällt, aber vom Chymosin nicht mehr als Substrat erkannt wird. [3]

Lit.: [1] K.-H. Scharf et al.: Cytologie, Schroedel 2000

[2] R.Blume: Hemmung und Vergiftung von Enzymen, <http://dc2.uni-bielefeld.de/dc2/katalyse/vkat-013.htm>, 9(2001)

[3] S.Eberhardt: Die Behandlung von Enzymen im GK 12, Zulassungsarbeit Kurs 98/II; eberhardt_sandra@hotmail.com

StD Gerhard Braun, Gymnasium bei St. Michael Schwäbisch Hall, Tüngentaler Str. 92, 74523 Schwäbisch Hall; mail@braun-sha.de ; 2002